فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۳، شمارهٔ ٤، زمستان ۱۳۹۳، صفحه ۵۷- ٦۷

تأثیر استرس بر رشد، تولیدمثل و محتوای کورتیزول بدن ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*)

مریم عاطف[۱]، بهرام فلاحتکار[۲*]

۱- دانشجوی کارشناسی، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان
۲- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱٦ تاریخ پذیرش:۹۳/٤/۷

* نویسنده مسئول مقاله: falahatkar@guilan.ac.ir

چکیده

تأثیر استرس بر رشد، میزان کورتیزول بدن و عملکرد تولیدمثل ۹۰ عدد ماهی ماده گوپی (*Poecilia reticulata*) نابالغ (۰/۰۳ ± ۰/۲۹ گرم) در ۳ تیمار و ۳ تکرار به مدت ۳۰ روز بررسی گردید. تیمارها شامل گروه شاهد (بدون دستکاری)، استرس دستکاری (نگهداری روزانه در تور به مدت ۲ دقیقه) و ماهیان تغذیه شده با کورتیزول (۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) بود. پس از این مدت، به هر کدام از تیمارها به تعداد ماهیان ماده باقی مانده، مولدین نر برای جفت‌گیری و القای تولیدمثل اضافه شد. طبق نتایج حاصل، اختلاف معناداری در شاخص رشد بین تیمارها مشاهده نشد. میزان تلفات و غلظت کورتیزول در دو تیمار استرس دستکاری و تغذیه شده با کورتیزول به‌طور معناداری از گروه شاهد بالاتر بودند (p=۰/۰۰۱). تعداد جنین‌های شمارش شده نیز دارای اختلاف معناداری با یکدیگر بودند، به‌طوری‌که حداقل و حداکثر مقدار آن به‌ترتیب در تیمار تغذیه شده با کورتیزول و تیمار کنترل مشاهده گردید (p=۰/۰۰۰). بنابراین، چنین دستکاری‌هایی اثرهای منفی بر روی درصد بقا و عملکرد تولیدمثلی دارد و می‌تواند میزان کورتیزول کل بدن را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین اندازه‌گیری کورتیزول کل بدن می‌تواند معیار مناسبی برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهیان کوچک آزمایشگاهی محسوب شود.

کلید واژگان: کورتیزول، استرس دستکاری، تولیدمثل، گوپی، *Poecilia reticulata*.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]

مقدمه

پاسخ غیراختصاصی بدن به هر نوع محرک خارجی عوامل استرس‌زا نامیده می‌شود. استرس باعث ایجاد طیف گسترده‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیک در ماهیان می‌شود. پاسخ‌های فیزیولوژیک به رویدادها زمانی اتفاق می‌افتند که موجودات زنده برای مقاومت در برابر مرگ یا مواجه با ناهنجاری‌ها از خود تلاش نشان می‌دهند (Schreck, 2000). اسارت، دستکاری، تراکم جمعیت، حمل و نقل و همچنین بیهوشی از جمله مؤلفه‌هایی هستند که موجب ایجاد استرس در ماهیان خواهند شد (Bolasina, 2011). ماهیان نسبت به تغییرات محیطی از جمله شرایط فیزیکی و بیوشیمیایی بسیار حساس هستند (Bolasina, 2006)، به‌طوری‌که بر طبق مطالعات Crosby و همکاران (۲۰۰۵)، ایجاد هر نوع زخم و استرس مربوط به دستکاری ماهی و یا حمل و نقل آن‌ها، بر بقا و کیفیت ماهیان تأثیرگذار خواهد بود. همچنین مطالعات مختلف نشان‌دهنده اثرهای منفی استرس بر بسیاری از شاخص‌های تولیدمثلی می‌باشند که موجب تغییراتی در سطوح استروئیدهای جنسی، باروری، اندازه تخم‌ها و میزان بقای تخم و لارو می شوند (Billard et al., 1981; Campbell et al., 1994; Morgan et al., 1999). Roy و همکاران (۱۹۹۰)، کاهش میزان ویتلوژنین را پس از مواجه با استرس ناشی از اسید، در جنس ماده ماهی قزل‌آلای جویباری (*Salvelinus fontinalis*) مشاهده نمودند. همچنین ایجاد استرس حاد در طول دوره اووژنز، به‌دلیل ایجاد اختلال در ویتلوژنین منجر به تولید تخم‌های کوچک در جنس ماده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد شد (Campbell et al., 1992) که این اثر ممکن است به‌واسطه هورمون کورتیزول انجام پذیرد که مانعی برای تولید ویتلوژنین است (Milla et al., 2009).

هورمون کورتیزول که یک هورمون استروئیدی گلوکوکورتیکوئیدی و مهم‌ترین هورمون ترشح شده از بخش قدامی کلیه است، شاخص اولیه استرس در ماهیان بوده و عمدتاً با قرارگیری موجود زنده در معرض عوامل استرس‌زای حاد یا مزمن، مقدار آن افزایش می‌یابد (Ramsay et al., 2006). افزایش کوتاه مدت در میزان کورتیزول موجب سازگاری بدن جاندار با آن می‌شود، در حالی‌که افزایش بلند مدت در مقدار آن باعث ایجاد ناهنجاری‌های منجر به کاهش رشد، نقص در تولیدمثل و افزایش بیماری‌های عفونی خواهد شد (Jentoft et al., 2005; Schreck et al., 2001). در تحقیقات متعددی اثرهای زیانبار کورتیزول بر عملکردهای تولیدمثلی بررسی شده که این فرایند احتمالا به‌طور غیرمستقیم با کاهش سنتز و آزادسازی GnRH یا گنادوتروپین از طریق عملکرد مستقیم بر روی استروئیدهای جنسی گنادها امکان‌پذیر است (Pankhurst and Van Der Berg et al., 2004; Reddy et al., 1999; Kraak, 2000). میزان کورتیزول پلاسما، بیشتر به‌عنوان یک شاخص در گونه‌های بزرگ‌تر ماهی تلقی می‌شود (Wendelaar Bonga, 1997)، در حالی‌که کورتیزول کل بدن، اغلب برای ماهی‌های کوچک‌تر و یا بافت‌های مختلف به‌کار می‌رود (Feist and Schreck, 2002; Ramsay et al., 2006; Falahatkar et al., 2013).

ماهی گوپی از خانواده پویسیلیده، یک ماهی کوچک و ساکن آب شیرین بوده که از مناطق آمریکای مرکزی و جنوبی نشأت گرفته و به دلیل داشتن رنگ‌های بسیار زیبا و سهولت در نگهداری، به‌عنوان یکی از محبوب‌ترین ماهیان زینتی در بین ماهیان آکواریومی شناخته شده است (Magurran, 2005). علاوه بر اهمیت زیاد این گونه از نظر اقتصادی، کوتاهی دوره رشد و نمو و همچنین سادگی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]

تکثیر آن‌ها، از جمله مزیت‌هایی بوده که توجه بسیاری را برای انجام کارهای تحقیقاتی به‌سوی خود جلب کرده است. بنابراین مطالعه حاضر، با هدف تعیین مقدار کورتیزول کل بدن ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*)، هنگام مواجهه با استرس و بررسی تأثیرهای ناشی از آن بر میزان تولیدمثل، درصد بازماندگی و تعیین شاخص‌های رشد انجام شد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

مراحل اجرایی این تحقیق از اردیبهشت تا تیر ۱۳۹۰ در سالن تکثیر و پرورش دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان انجام پذیرفت. برای انجام این آزمایش، تعداد ۱۰ عدد ماهی ماده نابالغ به هر تانک با حجم آبگیری ۵ لیتر و در مجموع ۹۰ ماهی به سیستم آزمایش (۹ عدد تانک) معرفی شد. وزن اولیه ماهیان در ابتدای آزمایش به‌طور متوسط ۰/۰۳ ± ۰/۲۹ گرم (mean ± SE) بود. توزیع ماهیان نیز به گونه‌ای انجام گرفت که هیچ‌گونه اختلاف معناداری از نظر وزن و طول در شروع آزمایش بین تانک‌ها وجود نداشت.

طراحی آزمایش

برای انجام این تحقیق، در مجموع ۳ تیمار و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد که شامل تیمار کنترل (بدون دستکاری)، استرس دستکاری (نگهداری در خارج از آب و در معرض هوا (Air exposure) به دفعات ۲ بار در روز، در زمان‌های مشخص و به مدت ۲ دقیقه به‌وسیله ساچوک) (Eslamloo and Falahatkar, 2014) و تیمار تغذیه با هورمون کورتیزول (hydrocortisone; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) (۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) بودند. دوره پرورش ٤ هفته به طول انجامید و در این مدت هوادهی به‌طور پیوسته انجام گرفت و آب تانک‌ها هر روز پیش از غذادهی سیفون گردید تا فضولات و موادغذایی مصرف نشده از محیط خارج شوند. میزان دمای آب در طول دوره، ۲۷- ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی- ۱۲ ساعت تاریکی (Fournie et al., 1999) تعبیه شد و تلفات احتمالی نیز به صورت روزانه ثبت شد.

ترکیب جیره و غذادهی

برای تغذیه ماهیان در این تحقیق، از غذای بیومار پودری ساخت کشور دانمارک با میزان پروتئین خام ۲۸ درصد، چربی خام ۳ درصد ، فیبر خام ٤ درصد و رطوبت ۱۰ درصد استفاده شد. برای آماده‌سازی جیره، به غذای تیمار کنترل (فاقد کورتیزول)، اتانول ۹٦ درصد و به غذای دارای کورتیزول به ازای هرکیلوگرم وزن غذا، ۵۰۰ میلی‌گرم از این هورمون اسپری گردید (Bernier et al., 2004)، ساخت غذا در ابتدای دوره پرورش انجام گرفت و جیره‌ها پس از خشک‌شدن و قرارگیری درون ظروف مخصوص، دور از نور قرار داده شده و برای غذادهی به ماهیان استفاده شدند. غذادهی ۳ وعده در روز (در ساعات ۷، ۱۵و ۲۳) و برحسب میزان اشتها انجام می‌گرفت.

شاخص‌های رشد

برای محاسبه شاخص‌های رشد، با توجه به اندازه‌گیری‌های انجام گرفته در انتهای آزمایش اول، نرخ رشد ویژه (SGR)، افزایش وزن بدن (BWI) و کارایی غذا (FE) از طریق فرمول‌های زیر سنجیده شد (Falahatkar et al, 2006):

SGR (درصد / روز) = [Ln(وزن نهایی به گرم) – Ln(وزن ابتدایی به گرم)] / (دوره پرورش به روز) ×۱۰۰

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]

وزن ابتدایی بدن / (وزن ابتدایی بدن)] = (درصد) BWI
۱۰۰×[− (وزن نهایی بدن)

(غذای خشک مصرفی / افزایش وزن = (درصد) FE
۱۰۰× تر)

القای تولیدمثل

در مرحله دوم آزمایش و پس از یک ماه تغذیه، به تعداد ماهیان ماده باقیمانده در مخازن، مولدین نر بالغ (به نسبت ۱:۱) اضافه گردید و در پایان دوره (۳۰ روز پس از تغذیه)، جنین‌های مربوط به باقیمانده مولدین در هر تیمار (کنترل ۱۱عدد، استرس= ٦عدد و کورتیزول= ۹عدد) شمارش شد. در این مرحله نیز تغذیه ۳ وعده در روز با غذای بیومار پودری و در همان ساعات تعیین شده و برحسب میزان اشتها انجام گرفت.

اندازه‌گیری کورتیزول

ابتدا نمونه‌ها وزن شدند و پس از قرارگیری در لوله‌های آزمایش، به میزان ۵ برابر وزن نمونه‌ها، بافر فسفات (pH=۷/۲، ۰/۰۱ M = PBS) به آن‌ها اضافه شد، سپس با هموژنایزر (مدل التراتوراکس، آلمان)، عمل هموژن کردن در آن‌ها انجام پذیرفت. ۳۰۰ میکرولیتر نمونه هموژن شده با میکروسمپلر به لوله آزمایش دیگری منتقل و به مقدار ۳ میلی‌لیتر دی‌اتیل‌اتر به آن‌ها اضافه گردید و سپس به مدت ۱۰ دقیقه روی شیکر و حدود ۱۰ دقیقه به درون فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از این مرحله، لایه بالایی جدا و به لوله دیگری انتقال یافت و برای تبخیر کامل اتر زیر هود قرار داده شد. ۳۰۰ میکرولیتر تتراکلروکربن به ماده خشک شده درون لوله اضافه گردید و به مدت ٤ دقیقه روی شیکر قرار گرفت. سپس به هر لوله آزمایش، مقدار ۳۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۱ درصد ژلاتینه اضافه و ۱۰ دقیقه با دور ۱٦۰۰g سانتریفیوژ نموده، پس از این مرحله، لایه بالایی جدا و به درون اپندروف منتقل و اپندروف‌ها برای سنجش میزان کورتیزول به آزمایشگاه منتقل شدند (Hiroi et al., 1997).

اندازه‌گیری هورمون کورتیزول (به ازای هر تیمار ۳ تکرار) برحسب نانوگرم در میلی‌لیتر با روش Radioimmunoassay به‌وسیله نشان‌دار کردن با عنصر رادیو اکتیو ید ۱۲۵، با دستگاه گاماکانتر LKB ساخت فنلاند انجام شد (Redding et al., 1984).

تجزیه و تحلیل آماری

تمام داده‌های جمع‌آوری شده، با استفاده از نرم‌افزار SPSS (16)، پس از کنترل طبیعی بودن آن‌ها به‌وسیله Shapiro-Wilk، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One- Way ANOVA) و آزمایش Tukey برای مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تمام آنالیزهای آماری در سطح معناداری (p<۰/۰۵) صورت گرفت و داده‌ها به‌صورت (mean ±SE) ارائه شدند.

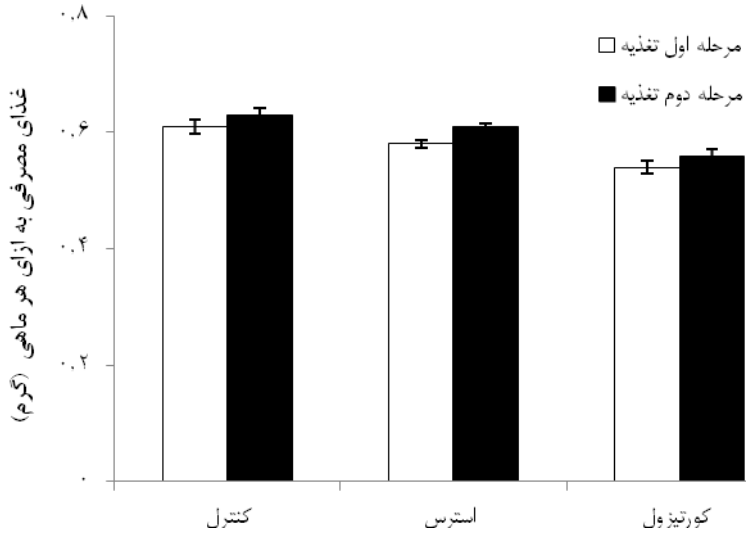
نتایج

مقدار غذای مصرفی

میزان غذای مصرفی ماهی گوپی در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین مقدار غذای مصرفی در تیمار کنترل و کمترین مقدار آن در تیمار تغذیه شده با کورتیزول مشاهده شد، اما بین تیمارها اختلاف معناداری در مقدار غذای مصرفی وجود نداشت.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]



شکل ۱ مقدار غذای مصرفی (mean ± SE) ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*) تحت شرایط مختلف تغذیه و نگهداری در دو مرحله تغذیه‌ای ۳۰ روزه (مرحله اول) و زمان القای تولیدمثل (مرحله دوم)

شاخص‌های رشد

جدول ۱ نتایج سنجش شاخص‌های رشد در ماهی گوپی را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، حداکثر میزان وزن بدن در تیمار کنترل مشاهده شد اما اختلاف معناداری بین تیمارها مشاهده نشد. بیشترین و کمترین میزان FE به‌ترتیب در تیمار کنترل و تیمار تغذیه با کورتیزول به‌دست آمد. همچنین اختلاف معناداری در میزان BWI و SGR تیمارهای مختلف وجود نداشت.

جدول ۱ شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شده در ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*) در تیمارهای مختلف پس از ۳۰ روز نگهداری تحت شرایط مختلف (mean ± SE).

تیمار	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	FE (٪)	BWI (٪)	SGR (٪ / روز)
کنترل	۰/۳٤ ± ۰/۰۷	۰/۸۵ ± ۰/۱٦	۵/۸ ± ۰/٤۰	۱۵٦/۹٦ ± ۱٤/۲۸	۱/٦٦ ± ۰/۰۸
استرس دستکاری	۰/۳۰ ± ۰/۰٦	۰/۷۷ ± ۰/۱۳	٤/۹۸ ± ۰/۳۸	۱۷۰/٦۳ ± ۱۹/۸۸	۱/۷۸ ± ۰/۱۲
تغذیه با کورتیزول	۰/ ۲۱± ۰/۰۵	۰/۵۱ ± ۰/۰۹	٤/۱۰ ± ۰/٤۳	۱۷٦/۸٦ ± ۲۷/٤۰	۱/۹۹ ± ۰/۱۷

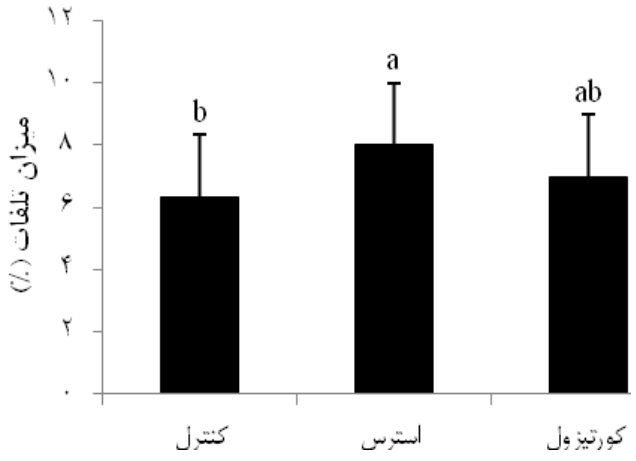
عدم وجود حروف در ستون‌ها، نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در شاخص‌های مذکور است ($p>0.05$).

میزان تلفات

نتایج بررسی میزان تلفات در تیمارهای مختلف در شکل ۲ نشان می‌دهد که میزان مرگ و میر در تیمار استرس دستکاری به‌طور معناداری بیشتر از تیمار کنترل بود ($p=۰/۰۰۱$). این در حالی است که تیمار تغذیه با کورتیزول با ۲ تیمار دیگر اختلاف معناداری را نشان نداد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

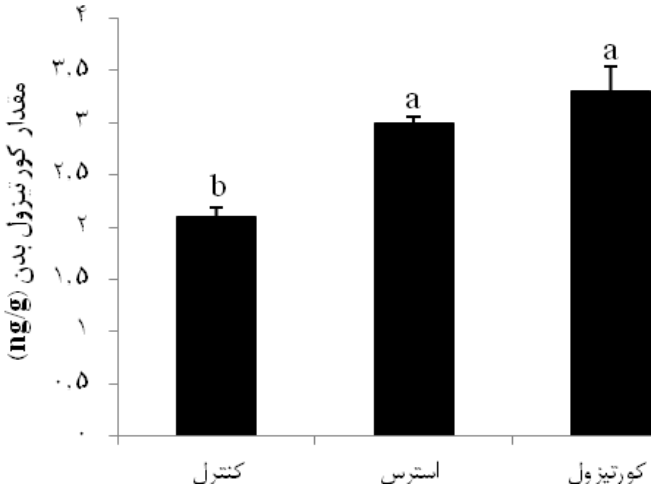
[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]



شکل ۲ مقدار تلفات محاسبه شده در ماهی گوپی پس از ٦۰ روز نگهداری تحت شرایط مختلف (mean ± SE)
حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار است (p<۰/۰۵).

مقدارکورتیزول

مقدار کورتیزول بدن ماهی گوپی ماده بالغ در تیمارهای مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که حداقل مقدار کورتیزول مربوط به تیمار کنترل (۰/۰۹ ng/g ± ۲/۱۳) و حداکثر مقدار آن مربوط به تیمار تغذیه با کورتیزول (۰/۲٤ ng/g ± ۳/۳۰) است و اختلاف معناداری بین ۲ تیمار استرس دستکاری و تغذیه با کورتیزول مشاهده نشد، در حالی‌که تیمار کنترل به‌طور معناداری دارای مقادیر کورتیزول کمتری نسبت به دو تیمار دیگر بود (p=۰/۰۰۱).



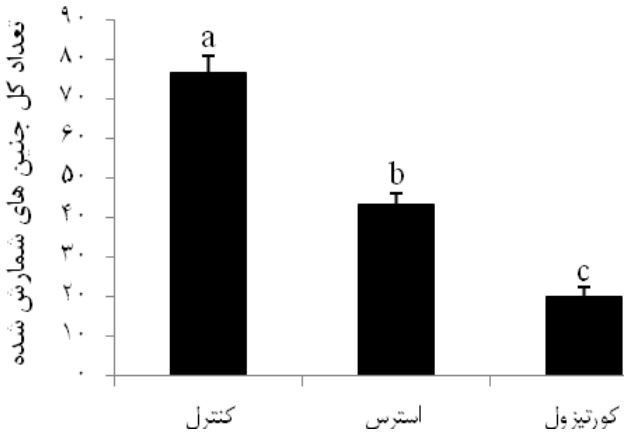
شکل۳ میانگین کورتیزول اندازه‌گیری شده (ng/g) در بدن ماهی گوپی پس از ٦۰ روز نگهداری تحت شرایط مختلف (mean ± SE)
حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار است (p<۰/۰۵).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]

تعداد جنین‌های شمارش شده

شکل ٤ نتایج شمارش جنین در تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد که حداقل تعداد شمارش شده در تیمار تغذیه شده با کورتیزول به میزان ۲/۳۱ ± ۲۰/۰۰ و حداکثر مقدار آن، در تیمار کنترل به میزان ٤/۱۸ ± ۷٦/٦۷ مشاهده گردید که نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار در بین ۳ تیمار حاضر بود (p=۰/۰۰۰).



شکل٤ تعداد جنین‌های شمارش شده در ماهی گوپی پس از ٦۰ روز نگهداری تحت شرایط مختلف (mean ± SE) حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار است (p<۰/۰۵).

بحث

با توجه به نتایج به‌دست آمده، بیشترین میزان غذای مصرفی هر ماهی مربوط به تیمار کنترل و کمترین آن مربوط به تیمار تغذیه شده با کورتیزول بود اما اختلاف موجود بین تیمارها معنادار نبود. با توجه به نوع استرس‌هایی که در تحقیق حاضر بر روی ماهی گوپی انجام گرفت، به نظر می‌رسد ماهی دچار یک مرحله تطابقی با شرایط استرس‌زای موجود شده باشد؛ بنابراین مقدار غذای مصرفی و به تبع آن، شاخص‌های رشد تحت تأثیر قرار نگرفت. در حالی که برخی از مطالعات نشان می‌دهند که هورمون کورتیزول می‌تواند موجب تغییراتی در میزان غذای مصرفی به‌وسیله ماهی گردد. این هورمون به‌عنوان یک عامل بالا برنده سطح گلوکز و یا آمینواسید خون ماهی شناخته شده است و می‌تواند به‌عنوان یک عامل محرک، اشتها را سرکوب کند (Andersen et al., 1991). اثرهای این هورمون با واسطه‌هایی صورت می‌پذیرد که به‌وسیله تنظیم فعل و انفعالات با برخی از نوروپپتیدهای مغز پیشین نظیر نوروپپتید Y و عامل آزاد کننده کورتیزول (CRF) در تنظیم مصرف غذا دخالت دارند. علاوه بر NPY و CRF دیگر مراکز نورونی نیز ممکن است به‌صورت واسطه، اثرهای کورتیزول را روی مصرف غذا کنترل کنند (Nikki et al., 2004). فعالیت کورتیزول در میزان غذای مصرفی ماهی گوپی، به مجموع اثرهای آنابولیک و کاتابولیک گلوکوکورتیکوئیدها، روی هر دو بخش محیطی و مرکزی مغز وابسته است و اثرهای گلوکوکورتیکوئیدها در میزان تغذیه جانوران به دز مصرفی و نیز وضعیت جاندار بستگی خواهد داشت. به‌طوری‌که Bernier و همکاران (۲۰۰٤)، اثرهای کورتیزول بر مقدار غذای مصرفی و رشد ماهی طلایی (*Carassius auratus*) را بررسی کرده‌اند. نتایج حاصل از مطالعه آن‌ها نشان داد

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]

که از طریق غذادهی با استفاده از جیره‌های حاوی ۰، ۵۰ و ۵۰۰ (ng/g) کورتیزول در هر گرم غذا، در تیمار کنترل و تیمار تغذیه شده با بالاترین سطح کورتیزول، میزان مصرف غذای روزانه بدون تغییر باقی ماند در حالی‌که در تیمار تغذیه شده با مقدار کورتیزول پایین، میزان غذای مصرفی به‌تدریج افزایش یافت. Davis و همکاران (۱۹۸۵)، تفاوتی در میزان پذیرش غذا در گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) بین تیمارهای کنترل و تغذیه شده با کورتیزول مشاهده نکردند، در حالی‌که Barton و همکاران (۱۹۸۷)، از دست دادن اشتها و ایجاد رفتار تهاجمی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد تغذیه با کورتیزول را گزارش نمودند. همچنین Gregory و Wood (۱۹۹۹) نیز نشان دادند که در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، تیمار تغذیه شده با کورتیزول به‌طور معناداری، دارای اشتهای کمتری نسبت به تیمار کنترل است. علاوه بر این، میزان غذای مصرفی در تیمار تغذیه شده با غذای حاوی کورتیزول در مقایسه با تیمار کنترل کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد. همچنین آن‌ها دریافتند که کاشت کورتیزول در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌طور معناداری موجب کاهش میزان غذای مصرفی در آن‌ها خواهد شد.

در مطالعه حاضر، با وجود مشاهده افزایش وزن کمتر در رژیم غذایی دارای کورتیزول نسبت به ۲ تیمار دیگر، نرخ رشد بیشتری مشاهده گردید، اما اختلاف موجود بین تیمارها معنادار نبود. با این حال به نظر می‌رسد که طولانی‌تر شدن دوره پرورش بتواند منجر به ظهور تفاوت‌هایی در میزان رشد در تیمارهای مختلف شود که نتایج حاصل، با نتایج به‌دست آمده از مطالعات Bernier و همکاران (۲۰۰٤) و Poursaeid و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت داشت.

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که بین تیمار مورد تغذیه با کورتیزول و استرس دستکاری نسبت به تیمار کنترل، افزایش معناداری در مقدار کورتیزول بدن ماهی گوپی وجود دارد که علت آن را می‌توان به ترشح بیشتر هورمون کورتیکوستروئیدها از غده فوق کلیوی نسبت داد (Pottinger et al., 2002). تحت شرایط استرس‌زا، هورمون آزادکننده کورتیکوتروفین ترشح شده از هیپوتالاموس، غده هیپوفیز را برای آزاد کردن ACTH (Adernocorticotropic Hormone) تحریک می‌کند و از طریق گردش خون به سلول‌های بین کلیوی در قسمت قدامی کلیه وارد شده و با تحریک سلول‌های بین کلیوی سبب ترشح کورتیزول می‌گردد (Schreck et al., 2001; Pierson et al., 2004). Ramsay و همکاران (۲۰۰٦) مشاهده نمودند که میزان کورتیزول کل بدن ماهی گورخری (*Danio rerio*)، تحت شرایط استرس‌زای تراکم، به مراتب ٤ برابر بیشتر از ماهیان موجود در تراکم کمتر است. همچنین Sakakura و همکاران (۱۹۹۸) و Ramsay و همکاران (۲۰۰۹)، به‌ترتیب افزایش معناداری در میزان کورتیزول کل بدن ماهی زردباله (*Seriola quinqueradiata*) و ماهی گورخری نسبت به تیمار کنترل، پس از استرس دستکاری مشاهده کردند. همچنین مطالعات Bernier و همکاران (۲۰۰٤) بر روی ماهی طلایی (*Carassius auratus*) و Small، (۲۰۰٤) بر روی گربه ماهی کانالی (*Channel catfish*)، با اسپری نمودن کورتیزول بر روی جیره غذایی، افزایش مقدار آن را در تیمار مورد تغذیه با کورتیزول نسبت به تیمار کنترل نشان دادند. Poursaeid و همکاران (۲۰۱۲) نیز افزایش میزان کورتیزول بافت نسبت به تیمار کنترل را در فیل ماهی (*Huso huso*) مشاهده نمودند.

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، درصد تلفات تیمار استرس دستکاری بیشتر از تیمارهای دیگر مورد

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]

آزمایش بود و اختلاف معناداری را با تیمار بدون استرس نشان داد. روبه‌رو شدن ماهی با عوامل استرس‌زای حاد یا مزمن که از حد ظرفیت تطابقی ماهی فراتر باشد و ماهی نتواند خود را با آن سازگار کند، احتمال بقای ماهی را کاهش و به دنبال آن درصد تلفات را افزایش خواهد داد؛ در حالی‌که استفاده از جیره غذایی حاوی کورتیزول، به‌دلیل سازگاری ماهی با شرایط ممکن از میزان تلفات نسبت به شرایط استرس‌زای حاد می‌کاهد. از طرفی ممکن است استرس کمتر از حد کشنده نیز در صورت مزمن شدن، به علت مصرف انرژی مورد نیاز برای جبران آن، سلامتی ماهی را تضعیف کند (Wedemeyer, 1996).

استرس با ایجاد تأثیرهای منفی بر عملکرد تولیدمثل موجب تغییراتی در باروری، اندازه تخم‌ها و فراوانی لاروها خواهد شد، به‌طوری‌که در تحقیق حاضر، بیشترین تعداد جنین‌ها در تیمار کنترل مشاهده گردید و در تیمار استرس دستکاری و تغذیه شده با کورتیزول به‌ترتیب از میزان جنین‌های تولیدی کاسته شد. استرس دستکاری موجب کاهش سطح تستوسترون پلاسما و ۱۷ بتا استرادیول می‌گردد که در نتیجه آن سطح ویتلوژنین پایین آمده و در نهایت موجب کاهش حجم و اندازه تخمدان و مهم‌تر از آن کاهش درصد بازماندگی تخم‌های لقاح یافته می‌گردد. در آزمایش‌های بسیاری ثابت شده است که کورتیزول رها شده در خون در نتیجه استرس به‌عنوان یک عامل اصلی در کاهش تولیدمثل است. این هورمون هم موجب کاهش سطح استرادیول و ویتلوژنین در گردش خون شده و باعث کاهش اندازه گنادها نیز می‌شود. استرس‌های ناشی از دستکاری، اسارت و تحریک باعث جلوگیری از اوواله شدن تخم‌های Bloch (*Centropomus undecimalis*) (Wallace et al., 1993) و نیز افزایش فساد تخم‌ها خواهند شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش میزان کورتیزول، باعث ایجاد استرس، افزایش تنش در ماهیان، کاهش میزان غذای مصرفی و مقدار رشد در ماهیان و نیز کاهش چشم‌گیر در تعداد جنین‌های تولید شده، می شود. از این‌رو میزان درصد بقای بچه ماهیان نیز تحت تأثیر قرار خواهند گرفت. همچنین تعیین مقدار کورتیزول کل بدن می‌تواند به‌عنوان یک ابزار برای ارزیابی استرس، بهینه‌سازی شرایط پرورش و بهبود سلامتی این گونه از مهره‌داران به‌ویژه ماهیان کوچک آزمایشگاهی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

از کارکنان محترم دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان که در این تحقیق یاری‌رسان ما بودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

Andersen, D. E., Reid, S. D., Moon, T. W. and Perry, S. F. 1991. Metabolic effects associated with chronically elevated cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48: 1811-1817.

Barton, B. A., Schreck, C. B. and Barton, L. D. 1987. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2: 173-185.

Bernier, N. J. and Peter, R. E. 2004. Effects of cortisol on food intake, growth, and forebrain neuropeptide Y and corticotrophin-releasing factor gene expression in goldfish. *General and Comparative Endocrinology*, 135: 230-240.

Berg, A. H., Modig, C. and Olsson, P. E. 2004. 17beta-estradiol induced vitellogenesis is inhibited by cortisol at the post-transcriptional level in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2, 62.

Billard, R., Bry, C. and Gillet, C. 1981. Stress, environment and reproduction in teleost fish. *In stress and Fish* (Pickering, A. D., ed.), pp. 185-208. London: Academic Press.

Bolasina, S. N. 2011. Stress response of juvenile flounder (*Paralichthys orbignyanus*, *Valenciennes*

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]

Poecilia reticulate. *Diseases of Aquatic Organisms*, 38: 135-142.

Gregory, T. R. and Wood, C. M. 1999. The effects of chronic plasma cortisol elevation on the feeding behaviour, growth, competitive ability, and swimming performance of juvenile rainbow trout. *Physiological and Biochemical Zoology*, 72: 286-295.

Hiroi, J., Sakakura, Y., Tagawa, M., Seikai, T. and Tanaka, M. 1997. Developmental changes in low-salinity tolerance and responses of prolactin, cortisol and thyroid hormones to low-salinity enviroment in larvea and juveniles of Japanese Flounder, (*Paralichthys olivaceus*). *Zoological Science*, 14: 987-992.

Jentoft, S., Aastveit, A. H., Torjesen, P. A. and Andersen, Q. 2005. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, *Part A*, 141: 353-358.

Magurran, A. E. 2005. Evolutionary ecology: the Trinidadian guppy. Oxford University Press, Oxford, U.K. 24p.

Milla, S., Wang, N., Mandiki, S. N. M. and Kestemont, P. 2009. Corticosteroids: friends or foes of teleost fish reproduction? *Comparative Biochemistry and Physiology*, *Part A*, 153: 242-251.

Morgan, M. J., Wilson, C. E. and Crim, L. W. 1999. The effect of stress on reproduction in Atlantic cod. *Journal of Fish Biology*, 54: 477-488.

Nikki, J., Pirhonen, J., Jobling, M. and Karjalainen, J. 2004. Compensatory growth in Juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), held individually. *Aquaculture*, 235: 285-296.

Pankhurst, N. W., and Van Der Kraak, G. 2000. Evidence that acute stress inhibits ovarian steroidogenesis in rainbow trout in vivo, through the action of cortisol. *General and Comparative Endocrinology*, 117: 225-237.

Pierson, P. M., Lamers, A., Flik, G. and Mayer–Gostan, N. 2004. The stress axis, stanniocalcin, and ion balance in rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 137: 263-271.

1839), to acute and chronic stressors. *Aquaculture*, 313: 140-143.

Bolasina, S. N., Tagawa, M., Tanaka, M. and Yamashita, Y. 2006. Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 259: 432-443.

Campbell, P. M., Pottinger, T. G. and Sumpter, J. P. 1992. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biology of Reproduction*, 47: 1140-1150.

Campbell, P. M., Pottinger, T. G. and Sumpter, J. P. 1994. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. *Aquaculture*, 120: 151-169.

Crosby, T. C., Hill, J. E., Martinez, C. V., Watson, C. A. and Yanong, R. P. E. 2005. On-Farm Transport of Ornamental Fish. UF/IFAS Circular 119 On-Farm Transport of Ornamental Fish, http://edis.ifas.ufl. edu/FA119.

Davis, K. B., Torrance, P., Parker, N. C. and Suttle, M. A. 1985. Growth, body composition and hepatic tyrosine aminotransferase activity in cortisol-fed channel catfish (*Ichtalurus punctatus*) Rafinesque. *Journal of Fish Biology*, 27: 177-184.

Eslamloo, Kh. and Falahatkar, B. 2014. Variations of some physiological and immunological parameters in siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) subjected to an acute stressor. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 17: 29-42.

Falahatkar, B. and Poursaeid, S. 2013. Stress responses of great sturgeon (*Huso huso*) subjected to husbandry stressors. *Aquaculture International*, 21: 947-959.

Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, M. R. and Pourkazemi, M. 2006. Effects of dietary vitamin C supplementation on performance, tissue chemical composition and alkaline phosphatase activity in great sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 283-286.

Feist, G. and Schreck, C. B. 2002. Ontogeny of the stress response in chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 25: 31-40.

Fournie, J. W., Hawkins, W. E. and Walker, W. W. 1999. Proliferative lesions in swimbladder of Japanese medaka *Oryzias latipes* and guppy

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]

rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during acid exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19: 803-806.

Sakakura, Y., Tagawa, M. and Tsukamoto, K. 1998. Whole-body cortisol concentrations and ontogeny of aggressive behavior in yellowtail (*Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel; Carangidae). *General and Comparative Endocrinology*, 109: 286-292.

Schreck, C. B. 2000. Accumulation and long-term effects of stress in fish. In: Moberg, G. P., Mench, J. A. (Eds.). *The Biology of Animal Stress*, pp. 147-158.

Schreck, C. B., Contreras-Sanchez, W. and Fitzpatrick, M. S. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, 197: 3-24.

Small, B. C. 2004. Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of *channel catfish*. *Journal of Fish Biology*, 64: 589-596.

Wallace, R. A., Boyle, S. M., Grier, H. J., Selman, K. and Petrino, T. R. 1993. Preliminary observations on oocyte maturation and other aspects of reproductive biology in captive female snook, *Centropomus undecimalis*. *Aquaculture*, 116: 257-273.

Wedemeyer, G. A. 1996. Physiology of fish in intensive culture system. International Thompson Publishing, New York. pp. 219-226.

Wendelaar Bonga, S. E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77: 591-625.

Pottinger, T. G., Carrick, T. R., Yeomans, W. E. 2002. The three-spined stickleback as an environmental sentinel: effects if stressors on whole-body physiological indices. *Journal of Fish Biology*, 61: 207-229.

Poursaeid, S., Falahatkar, B. and Mojazi Amiri, B., Kraak, G. V. D. 2012. Effects of long-term cortisol treatments on gonadal development, sex steroids levels and ovarian cortisol content in cultured great sturgeon *Huso huso*, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 163: 111-119.

Ramsay, J. M., Feist, G. W., Varga, Z. M., Westerfield, M., Kent, M. L. and Schreck, C. B. 2006. Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish (*Danio rerio). Aquaculture*, 258: 565-574.

Ramsay, J. M., Feist, G. W., Varga, Z. M., Westerfield, M., Kent, M. and Schreck, C. B. 2009. Whole-body cortisol response of zebrafish to acute net handling stress. *Aquaculture*, 297: 157-162.

Reddy, P. K., Renaud, R. and Leatherland, J. F. 1999. Effects of cortisol and triiodo-L-thyronine on the steroidogenic capacity of rainbow trout ovarian follicles at two stages of oocyte maturation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21: 129-140.

Redding, J. M., Schreck, C. B., Birks, E. K. and Ewing, R. D. 1984. Cortisol and its effects on plasma thyroid hormone and electrolyte concentrations in fresh water and during sea water acclimation in yearling coho salmon, (*Oncorhynchus kisutch*). *General and Comparative Endocrinology*, 56: 146-158.

Roy, R. L., Ruby, S. M., Idler, D. R. and Ying, S. 1990. Plasma vitellogenin levels in pre-spawning

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.6.3]